

Facultad de Odontología
Departamento de Estomatología III
Máster en Ciencias Odontológicas



**Cambios volumétricos en crestas residuales tras
regeneración osea guiada con dos tipos de
biomateriales. Estudio experimental**

Riccardo Di Raimondo

Tutor

Mariano Sanz Alonso

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	4
Objetivo	8
Hipótesis	8
MATERIAL Y MÉTODOS	9
Animales de experimentación	9
Procedimientos Pre-quirúrgicos	9
Criterios de inclusión en el estudio para los animales	9
Material de experimentación	9
Cirugías	10
Toma de impresiones	14
Mediciones lineales	15
Estadística y descripción variables del estudio	17
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFIA	30



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. Facultad de Odontología

TRABAJO DE FIN DE MASTER

VISTO BUENO DEL TUTOR

MASTER OFICIAL EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

El profesor/a tutor

Nombre y apellidos:

Mariano Sanz Alonso

del alumno/a

Nombre y apellidos

Riccardo Di Raimondo

encuadrado en la línea de investigación

Eficacia de protocolos quirúrgicos y regenerativos en Implantología

DA EL VISTO BUENO

para que el Trabajo de Fin de Máster titulado

Cambios volumétricos en crestas residuales tras regeneración ósea guiada con dos tipos de biomateriales. Estudio experimental.

sea admitido para su defensa ante Tribunal.

En Madrid, a 30 de agosto de 2016.

Fdo: Mariano Sanz

El presente Visto Bueno se debe acompañar del Trabajo de Investigación en formato electrónico y tres copias en papel (no es necesaria su encuadernación)

Agradecimientos

En primer lugar quiero nombrar a mi director del proyecto, el dr. Mariano Sanz Alonso, por hacer que este estudio sea posible, y también al dr. Ignacio Sanz Martín, ambos por acceder a guiarme en este proceso de aprendizaje, por todas sus enseñanzas y explicaciones y por el apoyo y paciencia incondicionales prestadas a lo largo de este tiempo.

Por último quiero agradecer a la Dra. Elena Figuero y a Javier Sanz Esporrin por todo lo que me ha enseñado de metodología de la investigación y sus ayudas en los análisis estadísticos.

A todos, Gracias

INTRODUCCIÓN

La pérdida dentaria, así como las enfermedades periodontales, los traumas y algunas enfermedades congénitas, pueden causar alteraciones dimensionales de las crestas ósea maxilar y mandibular (Schropp 2005; Fickl 2008; Fickl 2008; Pietrokovsky 1967).

Estas alteraciones pueden ocurrir a nivel horizontal y vertical y causan una pérdida tanto de los tejidos duros como de los tejidos blandos. Revisiones sistemáticas recientemente publicadas concluyen que tras la pérdida o extracción de los dientes se produce una reabsorción ósea a nivel vestibular de 1.67 mm y de 3.87 mm, reduciéndose así la anchura de la cresta ósea (Van der Weiden 2009).

De manera similar, la revisión de Tan y cols (Tan 2012) concluye que durante los primeros 6-7 meses se produce una reabsorción de la cresta del 29-63% a nivel horizontal, y entre 11-22% a nivel vertical (Tan 2012).

Además, como demuestran algunos estudios experimentales en perros estos defectos se acompañan de una reabsorción de la cresta ósea a nivel vestibular y a nivel lingual/palatino (Araujo 2005; Araujo 2009). La reabsorción de la cresta ósea es más pronunciada en la parte vestibular respecto a la lingual. La razón más plausible podría ser debida a que la tabla vestibular está compuesta prácticamente en su totalidad por el hueso alveolar conocido como “bundle bone” que se reabsorbe tras la extracción. En estos estudios experimentales, se observó que gran parte de la reabsorción ocurre en las primeras 8 semanas después de la pérdida dentaria, periodo caracterizado por un aumento de la actividad de los osteoclastos (Araujo 2005; Araujo 2009).

Por esta razón, es frecuente el hallazgo de crestas atróficas que necesitan de técnicas regenerativas para la colocación de implantes osteointegrados al fin de devolver la función y estética al paciente (Seibert 1996).

Diferentes técnicas quirúrgicas han sido utilizadas a lo largo de los años para solucionar estos defectos del reborde alveolar.

La regeneración de los defectos óseos está indicada en diferentes situaciones clínicas con el fin de aumentar la estética, la función, el acceso a higiene y la estabilidad de los tejidos a largo plazo (Benic 2014).

Varios tipos de técnicas de regeneración han sido empleadas a lo largo de los años, como distracción alveolar, bloques de hueso o la utilización de factores

de crecimiento. Sin embargo, la técnica más utilizada y documentada en la literatura es la regeneración con biomateriales y membranas (Hammerle & Jung 2003, Von Arx 2001).

En cuanto a las membranas, se han utilizado diferentes tipos a lo largo de los años, para regenerar defectos óseos, también en estudios preclínicos en perros (Stavropoulos 2004). Entre la gran variedad existente en la actualidad, las que más se utilizan hoy en día son membranas reabsorbibles de colágeno, reabsorbibles a base de ácido poliláctico y poliglicólico y las no reabsorbibles de politetrafluoroetileno (PTFE), PTFE expandido (ePTFE) o denso (dPTFE) con o sin refuerzo de titanio. Las membranas de ePTFE han sido ampliamente estudiadas en la literatura obteniendo buenos resultados, estas membranas no se reabsorben y por esta razón es necesaria una cirugía secundaria para su remoción. De igual manera, pueden también causar mayor índice de complicaciones en forma de infecciones post operatorias si se exponen al medio oral (Zitzmann 1997). Por el otro lado, las membranas de colágeno son reabsorbibles, han obtenido buenos resultados en la literatura científica y tienen una alta predictibilidad (Sanz-Sanchez 2015).

En la revisión sistemática de Sanz-Sánchez (Sanz-Sánchez 2015) sugiere que la utilización de membranas para regenerar el hueso perdido, a nivel horizontal sin la adición de sustitutos de hueso, no obtiene resultados satisfactorios, ya que hay un alto riesgo de colapso de las membranas sobre el espacio a regenerar. Por esta razón lo ideal es combinar un biomaterial para mantener el espacio necesario para regenerar los tejidos perdidos y evitar de esta manera que las membranas de barrera se colapsen, sobre todo si la morfología del defecto es muy irregular (Sanz-Sánchez 2015).

En cuanto a los biomateriales, varios tipos han sido estudiados a lo largo de los años, solos o combinados (Sanz 2015): autoinjertos, xenoinjertos, aloinjertos y materiales sintéticos. Los autoinjertos resultan ser ideales debido a su propiedad osteogénica y seguridad inmunológica. Pero su mayor desventaja es su poca disponibilidad. Por esta razón se suelen utilizar los sustitutos óseos. Entre los materiales sintéticos, el calcio y los fosfatos basados en materiales cerámicos bioactivos como la hidroxiapatita (HA) y el β -fosfato tricálcico (β -TCP) o $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$, han sido ampliamente utilizados en odontología, solos o combinados. Según los estudios experimentales en perros de Podaropoulos y

cols, de Tanuma y cols (Tanuma 2013; Podaropoulos 2009) y el estudio clínico de Trisi y cols (Trisi 2003), la utilización del β -TCP en la ROG de los defectos óseo, facilita la formación de nuevo hueso gracias a su fácil capacidad de reabsorción en contacto con los fluidos biológicos. Además se solubiliza en contacto con las células mesénquimales presentes en los defectos creados anteriormente. El isómero β del TCP (β -TCP), está caracterizado por un pH fisiológico, micro porosidad homogénea, solubilidad elevada. Esta micro porosidad del material parece regular su degradación y de esta manera permite un ambiente óptimo para la formación de nuevo hueso tras técnicas de ROG. Por el otro lado los xenoinjertos han sido ampliamente estudiados con resultados positivos en cuanto a integración y osteoconductividad y además tienen una tasa baja de degradación, resultando en los materiales de elección en las técnicas de ROG (Tovar 2014).

A pesar de que las técnicas regenerativas llevan utilizándose durante varias décadas existe una cantidad limitada de evidencia científica y estudios correctamente diseñados que hayan comprobado la eficacia de este tipo intervenciones quirúrgicas (Esposito 2009). El primer parámetro a evaluar es la supervivencia de los implantes en el hueso regenerado, que ha sido probada similar a aquella en implantes insertados en hueso nativo (Benic 2009).

En los últimos años, se han sido descrito otros métodos para medir los cambios en los tejidos blandos y duros que permiten valorar de manera más exhaustiva el resultado de las diferentes terapias y biomateriales. Algunos de estos métodos incluyen, los escáners óptico (Jemt & Lekholm 2003; Thomason 2005), la tomografía computerizada (Chen 2008), mediciones extraorales directas (modelos) o intraorales (Cardaropoli 2006; Chen 2008) y mediciones a través de fotografías (Ricci 2007).

Recientemente, con la introducción de herramientas digitales, se ha abierto la puerta al uso de sistemas de medición que tienen el potencial de ser más precisos y menos invasivos (Amorfini 2014).

Recientemente estas tecnologías han sido utilizadas en estudios en vitro (Windish 2007), experimentales (Fickl 2008; Fickl 2009), y también clínicos (Fickl 2008; Schneider 2011; Wiranto 2013; Strebel 2009; Thoma 2010; Gonzalez-Martin 2014; Sanz Martin 2015), para medir cambios volumétricos y lineales de los tejidos periodontales y perimplantares.

En todos los estudios mencionados donde se utilizó el escáner 3D, los errores en las mediciones se consideran inferiores a 1mm, con una resolución de hasta 20 micras (Windish 2007), demostrando la eficacia y las ventajas de las tecnologías digitales respecto a las técnicas convencionales donde se utilizan sondas periodontales y radiografías (Rebele 2014; Mehl 1997).

En el estudio de Mehl y cols se observó que la precisión y la exactitud de la obtención de datos 3D depende de la inclinación de la superficie estudiada. Con más detalle, si la inclinación es mayor de 60° (Figura 1), la precisión llega hasta $3\mu\text{m}$ y la exactitud hasta $6\mu\text{m}$, ambas sin llegar nunca a $10\mu\text{m}$ (Mehl 1997).

Fig.1

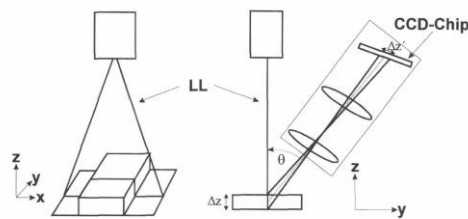


Fig. 1. Guía sobre la mejor inclinación necesaria para realizar un buen escaneo de datos con escáner 3D

Una de las ventajas más importantes de las tecnologías digitales es que el objeto escaneado puede ser magnificado y estudiado desde diferentes angulaciones permitiendo de esta manera realizar mediciones lineares y volumétricas (Schneider 2014).

En estos casos las mediciones se realizan en modelos previamente fabricados con escayola a partir de impresiones de silicona. Esto permite algunas ventajas como: bajo nivel de radiación, mayor acceso a zonas relevantes, posibilidad de realizar mediciones en un ambiente no clínico y sin problemas en cuanto a tiempo quirúrgico, posibilidad de repetir las mediciones todas las veces que se requiera sin necesidad de la presencia del paciente. Además, se pueden utilizar instrumentos digitales con escalas graduadas y calibradas para medir distancias, áreas y volúmenes. No obstante, el uso de las tecnologías digitales

presenta algunas desventajas. En primer lugar está el coste de la tecnología utilizada, seguido por la necesidad de unos técnicos expertos y entrenados. Además, los resultados pueden tardar más tiempo respecto aquellos obtenidos directamente sobre el paciente en la clínica. Esto es debido a la necesidad de una preparación previa, es decir toma de impresiones, vaciado, escaneado mediante escáner 3D para finalmente poder importar los archivos STL en un software y realizar así las mediciones. Por último, para obtener mediciones correctas sería necesario que las impresiones sean registradas lo mejor posible con todos los detalles anatómicos y que los modelos estudiados no tengan burbujas o irregularidades en el vaciado ya que podrían falsear los resultados.

Objetivo

El objetivo de esta investigación (estudio experimental en perros Beagle) es estudiar la dinámica del proceso de cicatrización y los cambios lineales de la cresta ósea, a las 8 semanas y a las 16 semanas de tiempo después de utilizar un injerto óseo particulado a base de β -TCP más HA (Osteon III®) y una membrana de colágeno como barrera (Genoss®, Dentium, Korea), en comparación con un control positivo con BioOss® (Geistlich, Suiza) y una membrana de colágeno (BioGide®, Geistlich, Suiza), y con un control negativo, en defectos de dehiscencias peri-implantarias.

Hipótesis

La hipótesis nula es que los tres enfoques quirúrgicos regenerativos podrían promover unos resultados en el proceso de cicatrización de la herida similar y que el uso del biomaterial utilizado como test del estudio (Osteon III®) combinado con la membrana de barrera no promueve regeneración ósea superior cuando se compara con un control positivo o un control negativo de forma que el cambio del perfil de la cresta ósea en los tres defectos será similar.

La hipótesis alternativa es que tanto los procedimientos de regeneración ósea guiada (biomaterial test y el control positivo) promoverían significativamente mayor regeneración ósea que el procedimiento de control negativo obteniendo así un mayor cambio del contorno de la cresta ósea.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación

Ocho perros adultos de raza "Beagle" con un peso entre 10 y 20 kilogramos se utilizaron para esta investigación. Los animales recibieron un código único de identificación, establecido con un chip subcutáneo RFID. El estudio fue aprobado por el Comité ético de experimentación animal-CCMIJU (Ref: 011/15).

Procedimientos Pre-quirúrgicos

Criterios de inclusión en el estudio para los animales

Todos los animales del estudio se inspeccionaron para asegurar la ausencia de enfermedad oral o condiciones dentales que impidían la colocación de los implantes del estudio. Se observaron todos los animales durante dos semanas antes del inicio del estudio para determinar su estado de salud general. Durante este período de cuarentena se documentaron las posibles presencia de signos o síntomas de enfermedades. El día de la cirugía cada animal fue examinado para documentar su estado de salud general y determinar su inclusión final en el estudio.

Materiales de experimentación

- Materiales para impresiones y vaciado de modelos (silicona pesada y fluida Helite HD +, Zhermack y escayola Fujirock type 4)
- Implantes dentales cilíndricos específicamente diseñados para el estudio de 2.5mm de diámetro y 9mm de longitud (Dentium, Seúl, Corea).
- Sustituto de hueso Osteon III® (70% HA +30% β -TCP) y membrana de colágeno, Collagen Membrane (GENOSS[®], Dentium, Seúl, Korea) para el grupo de test
- BioOss® (100% HA) y membrana BioGide® para el control positivo (Geistlich, Wolhusen, Suiza)
- Tornillos (pins) de metal para la fijación de la membrana (Dentium, Seúl, Corea)

Cirugías

Dos grupos de cirugías se planificaron de acuerdo con los periodos de cicatrización; 8 semanas y 16 semanas.

Cirugía 1. Creación de los defectos para el grupo de 16 semanas

Todas las cirugías se realizaron bajo anestesia general. Una vez anestesiados, se levantó un colgajo mucoperiostico de forma bilateral en la región de los cuatro premolares inferiores. Después se realizó la hemisección del primer molar, del tercer y cuarto premolar, y se extrajeron las raíces mesiales del primer molar y del cuarto premolar, la raíz distal del tercer premolar, y el segundo premolar (M1M, P4M, P3D y P2) de manera menos traumática posible. En un lado de la mandíbula se obtuvo un cierre por primera intención (Figura 2a, b, c)

Fig. 2a

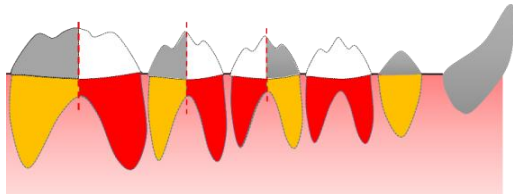


Fig. 2b



Fig. 2c



Figura 1. 2a) Diagrama de las extracciones realizadas en la mandíbula de los perros. 2b) Imagen clínica después de la odontosección. 2c) Raíces extraídas de las piezas: M1M, P4M, P3D y P2

Después de las extracciones, se procedió a la remoción mediante una fresa de Lindleman de turbina y abundante irrigación de la tabla ósea vestibular en los alveolos en los que se hicieron las extracciones para crear un defecto óseo (7 mm apico-coronal, 10 mm mesio-distal y 5 mm buco-lingual).

Los animales fueron alimentados sólo con comida blanda para prevenir la rotura de las suturas durante 14 días.

Cirugía 2.

Después de un periodo de cicatrización de 8 semanas se realizó el mismo procedimiento quirúrgico que incluye la extracción de los dientes y la eliminación de la tabla ósea vestibular del lado contralateral de cada perro. En ambos lados, los colgajos se reposicionaron sobre la cresta ósea resultante y fueron suturados con suturas reabsorbibles (Figura 3a, b).

Una vez suturados los colgajo, se procedió a realizar las incisiones y despegamiento del colgajo del lado contralateral donde se había producido la cicatrización de los defectos creados 8 semanas antes y que representaría el grupo con un tiempo de cicatrización de 16 semanas. Una vez expuesta la cresta alveolar se llevó a cabo la colocación de los implantes cilíndricos (implantes Dentium® NR; 2.5x9mm, Korea, Seúl). Estos implantes fueron colocados en cada defecto creando así un defecto de dehiscencia bucal, cuyas dimensiones fueron medidas mediante una sonda periodontal UNC15 (Hu Friedy, Chicago, IL, US) (Figuras 4a, b, c). Una vez perforada la tabla ósea vestibular, a los tres defectos se asignó aleatoriamente uno de los tres grupos (test, control positivo y control negativo). Para los grupos de prueba (test) y control positivo, el defecto se rellenó con un sustituto óseo particulado (Osteon III® o BioOss®) y luego se adaptó la membrana (GENOSS, Seúl, Corea para el grupo test y BioGide®, Geistlich, Wolhusen, Suiza, para el control positivo) sobre el sustituto óseo para cubrir completamente el defecto y extendiéndose 2-3 mm más allá de los márgenes del defecto. La membrana fue asegurada en posición por dos tornillos de fijación de titanio en la parte vestibular a nivel de la base de la mandíbula y por lingual a 2 mm hacia apical respecto a la parte superior de la cresta ósea (Figuras 5a, b, c).

Posteriormente, los colgajos fueron reposicionados y suturados con suturas reabsorbibles y con puntos colchonero horizontales internos, de modo que los materiales regenerativos pudieran estar completamente cubiertos y protegidos. Los animales fueron alimentados sólo con comida blanda para prevenir la rotura de las suturas durante 14 días.

Fig. 3a



Fig. 3b



Figura 3. 3a) Imagen quirúrgica después de la creación de los defectos en la hemimandíbula izquierda. 3b) Imagen quirúrgica después de la creación de los defectos en la hemimandíbula derecha.

Fig. 4a

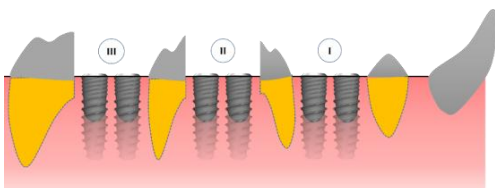


Fig. 4b



Fig. 4c



Figura 4. 4a) Diagrama de los implantes colocados en los 3 defectos. 4b) Dehiscencia periimplantar en un defecto. 4c) Imagen clínica después de la colocación de los implantes.

Fig. 5a

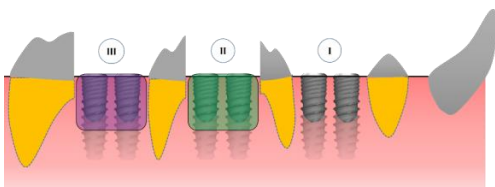


Fig. 5b



Fig. 5c



Figura 5. 5a) Diagrama de la asignación de los tres grupos del estudio (I: control negativo, II control positivo, III test). 5b) Imagen clínica después de la ROG en los tres grupos. 5c) Fijación de las membranas de barrera en los grupo test y en el control positivo mediante pins de titanio.

Cirugía 3.

El sitio quirúrgico se dejó cicatrizar durante 8 semanas y se llevó a cabo el mismo procedimiento (colocación de implantes y ROG) en la otra hemimandíbula para grupo con la curación a las 8 semanas (Figura 6).

Fig. 6

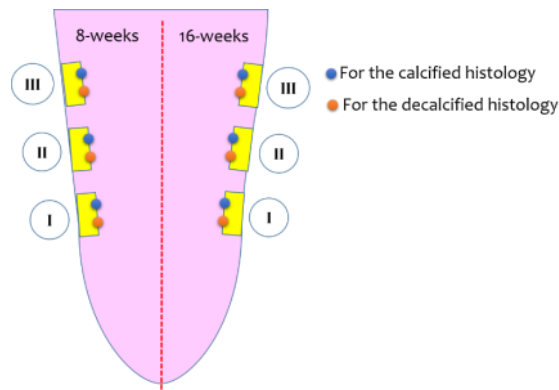


Figura 6. Diseño experimental y asignación de los grupos

Cirugía 4.

Después de un período de curación de 8 semanas, los perros se sometieron a eutanasia con una dosis letal de Sodio-Pentothal® y perfundidos a través de las arterias carótidas con formaldehído al 4%. Los bloques de tejido contenientes tejidos blandos y duros de cada defecto se diseccionaron y se recogieron para el análisis histológico (Figura 7a, b, c)(Figura 8).

Fig. 7a



Fig. 7b



Fig. 7c



Figura 7. 7a) Secciones de la mandíbula de perro vista desde el alto. 7b) Secciones de la mandíbula de perro vista desde una perspectiva lateral. 7c) Botes contenentes las mandíbulas de los 8 perros del estudio.

Fig. 8

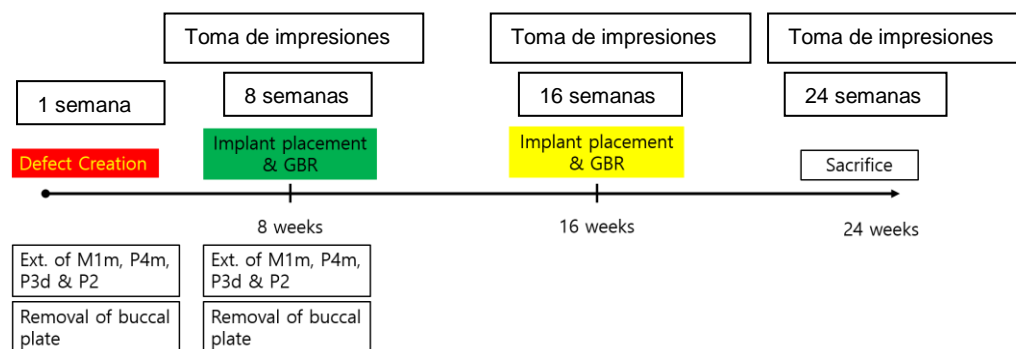


Figura 8. Esquema del diseño del estudio y procedimientos quirúrgicos y no quirúrgicos realizados en cada visita.

Toma de impresiones

Todas las impresiones se obtuvieron utilizando silicona fluida y pesada (Helite HD +, Zhermack). (Figura 9a, b, c) Los modelos fueron fabricados con escayola (Fujirock type 4) en la segunda y tercera visitas, en función del momento en el cual fueron creados los defectos óseos periimplantares (curación a las 8 y 16 semanas), y en la última visita antes del sacrificio de los animales, por un total de 24 modelos, 3 modelos por perro. Sin embargo, los modelos utilizados para medir los cambios lineales fueron 2, uno con los defectos creados y el otro tras la GBR. Además cada modelo fue evaluado para confirmar la posible presencia de irregularidades, burbujas, rotura de cúspides y falta de claridad de detalle del vestíbulo. Los tres modelos de cada perro (M0, M1 y M2), reflejan los siguientes procedimientos quirúrgicos:

- M0: baseline, creación de los defectos óseos periimplantares
- M1 y M2: cicatrización de los defectos en los dos tiempos del estudio (8 semanas y 16 semanas)

Fig. 9a



Fig. 9b

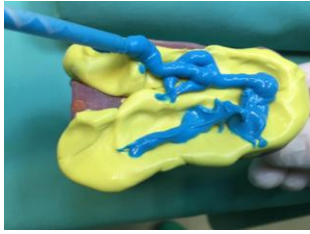


Fig. 9c

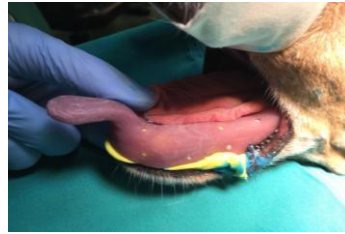


Figura 9. 9a) Materiales utilizados para tomar las impresiones en los perros del estudio. 9b) Preparación de la cubeta individual con la silicona pesada y fluida. 9c) Colocación de la cubeta individual y toma de impresión

Mediciones lineales

Los modelos obtenidos fueron escaneados con un escáner 3D (Zimmer Zfx Evolution) ^(Figura 10a,b) y transferidos a un software (Netfabb Basic 7.4.0 532) ^(Figura 11a, b) con el objetivo de dividir los archivos STL de los modelos de cada perro en dos partes iguales, hemimandíbula derecha y hemimandíbula izquierda. Este fue un paso necesario e indispensable para facilitar la correcta superposición de los archivo STL. De esta manera se obtuvo dos archivos STL (cicatrización a las 8 semanas en un lado y a las 16 semanas en el otro), a partir de un único modelo. Una vez divididos todos los archivo STL, los datos obtenidos fueron transferidos a un software de procesamiento de imagen, SMOP (Swissmeda, Zurich, Switzerland) ^(Figura 12) para su estudio de los cambios dimensionales de la cresta. Este software permite superponer los modelos utilizando un algoritmo de best-fit gracias a los dientes remanentes, utilizados como referencia. Después de seleccionar tres o cuatro puntos de referencia, el software superpone automáticamente los modelos de cada visita utilizando una serie de algoritmos matemáticos. Por último se ha de ajustar manualmente el matching de los modelos para obtener una superposición optima, necesaria para realizar las mediciones lineales y volumétricas. Los modelos combinados fueron utilizados para las mediciones. Antes de las mediciones, el modelo 0 (baseline) de cada perro se estableció como referencia, mientras que los modelos 2 y 3 se utilizarán como test para estudiar la cantidad de tejidos regenerados en los dos tiempos de cicatrización del estudio.

El último paso necesario para evaluar el resultado de la regeneración, fue calcular las medidas lineales a nivel de la cresta ósea vestibular en las imágenes obtenidas tras el proceso de best-fit. Este paso se realizó con un software específico para realizar las mediciones (ImageJ, Bethesda, Maryland, USA) exportando las imágenes de la superposición anteriormente creadas. Debido a que el suelo de los defectos óseos previamente creados se encontraba a una distancias apico-coronal comprendida entre 5 y 7 mm del margen coronal de la cresta, se hicieron tres mediciones por cada superposición de los modelos: a 1, 3 y 5 mm. ^(Figura 13) De esta manera fue posible observar también a qué nivel se obtuvo una mayor regeneración, es decir si a nivel apical, medio o coronal. De igual manera fue posible detectar qué material obtuvo mejores resultados en cuanto a los tejidos regenerados.

Fig.10a

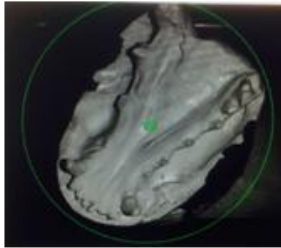


Fig. 10b

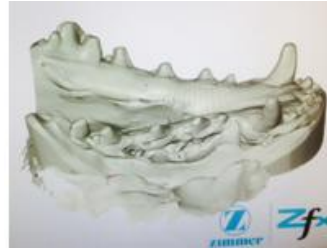


Figura 10. 10a) Inicio escaneado de los modelos en el escáner 3D. 10b) Modelo escaneado una vez terminado el proceso de escaneo.

Fig.11a

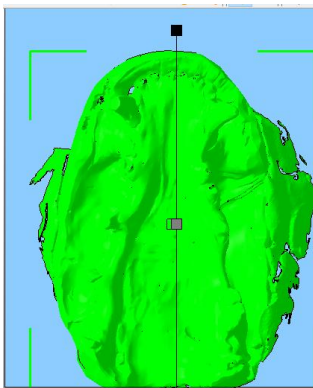


Fig. 11b

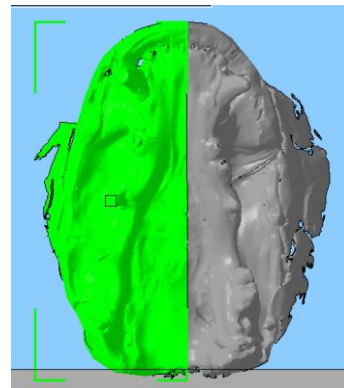


Figura 11. 11a) Inicio del proceso de división de los archivo STL. 11b) Obtención de dos archivos STL a partir de un sólo modelo inicial

Fig. 12

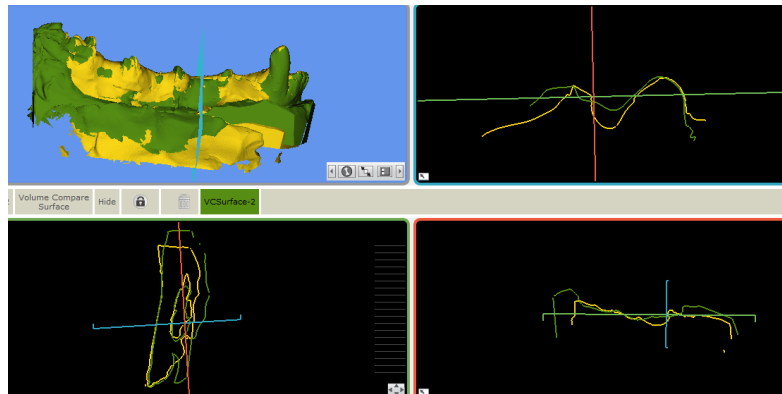


Figura 12. Superposición del modelo baseline y post ROG

Fig.13

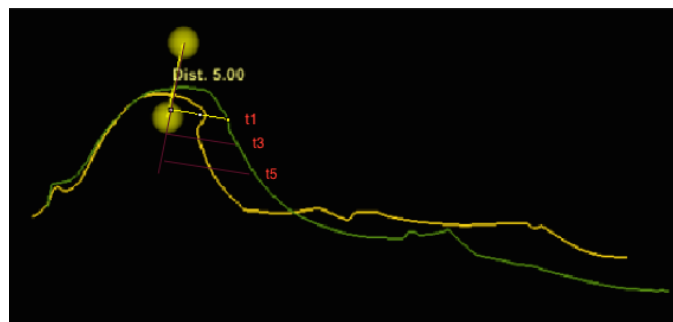


Figura 13. Cálculo del cambio del volumen de la cresta ósea vestibular tras ROG a 1, 3 y 5 mm

Estadística y descripción de las variables del estudio

Se trata de un estudio experimental (preclínico) en perro Beagle. La asignación de los 3 grupos de estudio se realizó con un software de aleatorización de manera que en cada hemimandíbula tuvimos el material test, el control positivo y el control negativo. La aleatorización se realizó estratificando por caja mediante bloques a través de una macro para el programa estadístico IBM SPSS Statistics[®] V20. (Macro !RNDSEQ V2011.09.09 (c) JM.Domenech). Este procedimiento se repitió en ambas hemimandíbulas de cada perro, obteniendo, un lado con la cicatrización a las 8 semanas, y el otro con la cicatrización a las 16 semanas.

La variable primaria de este estudio es una variable cuantitativa continua y representa el "cambio lineal" medido en mm, del perfil de la cresta ósea vestibular.

Las variables secundaria son la tasas de complicación que se refieren a la exposición de la membrana (variable categórica nominal), y los resultados histológicos e inmunohistoquímico que actualmente están en procesamiento. Se realizó una estadística descriptiva y una estadística analítica con el software IBM SPSS. Statistics® ("Statistical Package for the Social Sciences"), versión 20. Se considerará $p < 0,05$ como diferencias estadísticamente significativas

Estadística descriptiva

Se calcularon la media, desviación estándar (SD) e intervalo de confianza (IC) para la variable cuantitativa (que se refiere a las mediciones lineales). Mientras que para cada variables categórica se calculó una distribución de frecuencia (exposición membrana).

Estadística analítica

En función de cómo salieron las pruebas de Normalidad (Saphiro Wilk) y homeogeneidad cambiaron los test estadísticos.

- Si era normal y las comparaciones eran de 2 a 2 (dos tiempos de estudios y 2 grupos), se utilizaron test Paramétricos. Entonces una ANOVA para análisis intergrupo (diferencia caja A, B, C).

Todos los datos del estudio se almacenaron en una tabla Excel para el futuro análisis estadístico.

RESULTADOS

Resultados clínicos

A lo largo del estudio no se registró ninguna complicación intra o postoperatoria. En un perro no fue posible realizar la cirugía regenerativa a las 8 semanas por presentar una insuficiencia renal, no permitiendo así anestesiarse al animal en esta visita. Sin embargo, en el lado contralateral del mismo perro sí fue posible realizar la cirugía regenerativa con la cicatrización a las 16 semanas. Todos los defectos operados cicatrizaron sin secuelas,

complicaciones, signos de inflamación o infecciones secundarias. Tampoco se registró ninguna exposición de las membranas utilizadas como barrera para la ROG.

Los defectos creados fueron 3 por cada hemimandíbula, por un total de 6 defectos por perro (48 en los 8 perros). Solo 42 defectos fueron utilizados para el análisis estadístico, excluyendo 3 de ellos por la imposibilidad de operar un lado de un perro en la visita 3, y otros 3 por un incorrecto vaciado de las impresiones que no permitió de esta manera realizar un correcto matching y sucesivamente el análisis lineales del cambio de la cresta ósea vestibular.

Resultados del análisis estadístico

Se realizó una estadística descriptiva y una estadística analítica.

En el análisis descriptivo se calculó la media y desviación estándar o la media e intervalo de confianza al 95%.

Para la estadística analítica se estudiaron las relaciones intergrupo realizando previamente pruebas de normalidad y de homogeneidad de varianza. Si cumplían ambas pruebas ($p > 0,05$), se procedió con una ANOVA; si no cumplían ambos, se tenía que utilizar la prueba de Kruska Wallis.

Debido a que la distribución resultó normal y homogénea para el análisis intergrupo, el test utilizado fue entonces el ANOVA.

Los resultados de la GBR se analizaron en 3 diferentes puntos de la cresta de cada defecto (1, 3 y 5 mm), considerándolos respectivamente como porción coronal, medio y apical.

Análisis lineales

De los 42 sitios utilizados para el análisis estadístico, se obtuvieron 14 sitios con el material test, 14 con el control positivo y 14 se dejaron sin ningún material y utilizados como control negativo. Además 24 se refirieron a la cicatrización a las 16 semanas (8 test, 8 control positivo y 8 control negativo), mientras los restantes 18 a la cicatrización a las 8 semanas (6 test, 6 control positivo y 6 control negativo).

Primero se procedió evaluando cuál de los dos materiales utilizados, más el control negativo, producía un mayor cambio en la anchura de la cresta

vestibular en los dos tiempo de cicatrización (8 y 16 semanas). Sucesivamente se evaluó a qué nivel se produjo un mayor cambio de la misma, es decir si a nivel coronal, medio y apical. Además este análisis fue repetido en los tres puntos analizados, a 1, 3 y 5 mm.

Cambio de la cresta en función del material utilizado

Cicatrización a las 8 semanas

Análisis intergrupo del grupo con la cicatrización a las 8 semanas ^(Tabla 1)

1 mm

En el análisis descriptivo, la media del aumento de la anchura de la cresta tras la ROG en el test, en el control positivo y en el control negativo es de respectivamente: 0,77 mm (SD= 0,42), 0,84 mm (SD= 0,50), 0,33 mm (SD= 0,61). En el análisis, se observó que el material test produce un menor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al control positivo de 0,07 mm ($p= 1,000$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,44 mm ($p= 0,485$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Por último, el control positivo produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,51 mm ($p= 0,319$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

3 mm

En el análisis descriptivo, la media del aumento de la anchura de la cresta tras la ROG en el test, en el control positivo y en el control negativo es de respectivamente: 1,30 mm (SD= 0,76), 0,89 mm (SD= 0,58), 0,66 mm (SD= 1,31). En el análisis, se observó que el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al control positivo de 0,41 mm ($p= 1,000$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,64 mm ($p= 0,764$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Por último, el control positivo produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,22 mm ($p= 1,000$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

5 mm

En el análisis descriptivo, la media del aumento de la anchura de la cresta tras la ROG en el test, en el control positivo y en el control negativo es de respectivamente: 0,84 mm (SD= 0,81), 1,06 mm (SD= 1,03), 0,48 mm (SD= 1,85). En el análisis, se observó que el material test produce un menor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al control positivo de 0,21 mm (p= 1,000). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,36 mm (p= 1,000). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Por último, el control positivo produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,58 mm (p= 1,000). Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Mediciones	Grupo Test	Control +	Control -	Δ Test/Control +	Δ Test/Control-	Δ Control +/Control -
<u>1 mm</u>	0,77 (0,42)	0,84 (0,50)	0,33 (0,61)	(-) 0,07 mm p= 1,000	0,44 mm p= 0,485	0,51 mm p= 0,319
<u>3 mm</u>	1,30 (0,76)	0,89 (0,58)	0,66 (1,31)	0,41 mm p= 1,000	0,64 mm p= 0,764	0,22 mm p= 1,000
<u>5 mm</u>	0,84 (0,81)	1,06 (1,03)	0,48 (1,85)	(-) 0,21 mm p= 1,000	0,36 mm p= 1,000	0,58 mm p= 1,000

Tabla 1. Aumento de la cresta ósea vestibular medido en milímetros en los tres diferentes grupos y diferencias entre los grupos tras la ROG a las 8 semanas

Cicatrización a las 16 semanas

Análisis intergrupo del grupo con la cicatrización a las 16 semanas (Figura

14a, b, c),(Tabla 2)

1 mm

En el análisis descriptivo, la media del aumento de la anchura de la cresta tras la ROG en el test, en el control positivo y en el control negativo es de respectivamente: 1,02 mm (SD= 0,74), 0,66 mm (SD= 0,90), -0,007 mm (SD= 0,49). En el análisis, se observó que el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al control positivo de 0,35 mm (p= 1,000). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además el material test

produce un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 1,02 mm ($p= 0,032$). Esta diferencia es estadísticamente significativa. Por último, el control positivo produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,66 mm ($p= 0,247$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

3 mm

En el análisis descriptivo, la media del aumento de la anchura de la cresta tras la ROG en el test, en el control positivo y en el control negativo es de respectivamente: 1,69 mm (SD= 0,60), 1,19 mm (SD= 0,62), 0,40 mm (SD= 0,56). En el análisis, se observó que el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al control positivo de 0,49 mm ($p= 0,337$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 1,29 mm ($p= 0,001$). Esta diferencia es estadísticamente significativa. Por último, el control positivo produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,79 mm ($p= 0,044$). Esta diferencia es estadísticamente significativa.

5 mm

En el análisis descriptivo, la media del aumento de la anchura de la cresta tras la ROG en el test, en el control positivo y en el control negativo es de respectivamente: 1,76 mm (SD= 0,93), 0,83 mm (SD= 0,52), 0,22 mm (SD= 0,67). En el análisis, se observó que el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al control positivo de 0,92 mm ($p= 0,092$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además el material test produce un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 1,54 mm ($p= 0,005$). Esta diferencia es estadísticamente significativa. Por último, el control positivo produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto al control negativo de 0,61 mm ($p= 0,462$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Tabla 2

Mediciones	Grupo Test	Control +	Control -	Δ Test/Control +	Δ Test/Control -	Δ Control +/Control -
1 mm	1,02 (0,74)	0,66 (0,90)	(-) 0,007 (0,49)	0,35 mm p= 1,000	1,02 mm p= 0,032 ***	0,66 mm p= 0,247
3 mm	1,69 (0,60)	1,19 (0,62)	0,40 (0,56)	0,49 mm p= 0,337	1,29 mm p= 0,001 ***	0,79 mm p= 0,044 ***
5 mm	1,76 (0,93)	0,83 (0,52)	0,22 (0,67)	0,92 mm p= 0,092	1,54 mm p= 0,005 ***	0,61 mm p= 0,462

Tabla 2. Aumento de la cresta ósea vestibular medido en milímetros en los tres diferentes grupos y diferencias entre los grupos tras la ROG a las 16 semanas
(*** La diferencias es estadísticamente significativa)

Fig.14 a

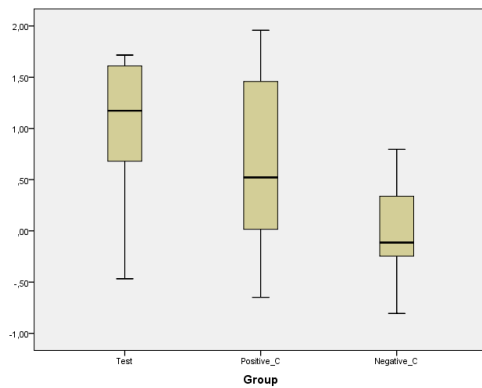


Fig.14 b

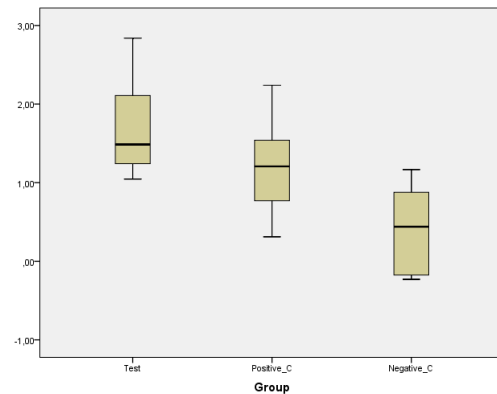


Fig.14 c

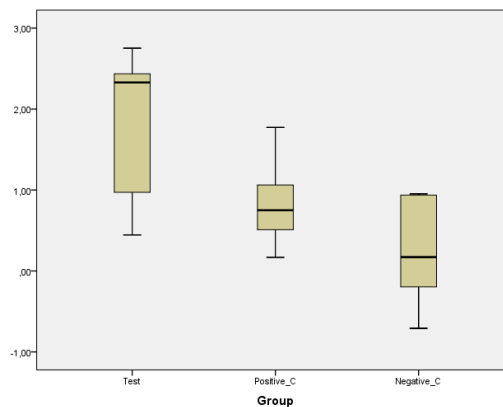


Figura 14. 14a) Box Plots representando los cambios ocurrido en el grosor de la tabla vestibular tras la ROG a las 16 semanas en el milimetro 1. 14b) Box Plots representando los cambios ocurrido en el grosor de la tabla vestibular tras la ROG a las 16 semanas en el milimetro 3. 14c) Box Plots representando los cambios ocurrido en el grosor de la tabla vestibular tras la ROG a las 16 semanas en el milimetro 5.

Cambio de la cresta globales: coronal, medio y apical (Figura 15a, b)

Antes de analizar los dos tiempo de cicatrización separadamente, se procedió analizándolos todos en conjunto.

Entre el total de los 48 defectos creados en los 8 perros, las medidas utilizadas para el análisis estadístico y que se referían al nivel coronal, medio y apical eran respectivamente: 42 coroneles, 42 medios y 37 apicales. Además las que se referían a la cicatrización a las 8 semanas eran respectivamente de 18 coroneles, 18 medios y 17 apicales. Mientras las que se referían a la cicatrización a las 16 semanas eran de 24 coroneles, 24 medios y 20 apicales. Entre el total, en el análisis descriptivo, la media del cambio (aumento) de la anchura de la cresta tras la ROG a nivel coronal, medio y apical, es de respectivamente: 0,59 mm (SD= 0,71), 1,03 mm (SD= 0,84) y 0,88 mm (SD= 1,09). En el análisis, se observó que a nivel coronal se produce un menor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al nivel medio de 0,43 mm ($p= 0,076$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además a nivel coronal se produce un menor cambio de la cresta ósea respecto a la parte apical de la cresta de 0,28 mm ($p= 0,454$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Por último, a nivel medio se produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto a la parte apical de 0,14 mm ($p= 1,000$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Cicatrización a las 8 semanas

En el análisis descriptivo, la media del cambio (aumento) de la anchura de la cresta tras la ROG a nivel coronal, medio y apical, es de respectivamente: 0,65 mm (SD= 0,54), 0,95 mm (SD= 0,92) y 0,78 mm (SD= 1,26). En el análisis, se observó que a nivel coronal se produce un menor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al nivel medio de 0,30 mm ($p= 1,000$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además a nivel coronal se produce un menor cambio de la cresta ósea respecto a la parte apical de la cresta de 0,13 mm ($p= 1,000$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Por último, a nivel medio se produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto a la parte apical de 0,17 mm ($p= 1,000$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Cicatrización a las 16 semanas

En el análisis descriptivo, la media del cambio (aumento) de la anchura de la cresta tras la ROG a nivel coronal, medio y apical, es de respectivamente: 0,55 mm (SD= 0,82), 1,09 mm (SD= 0,78) y 0,97 mm (SD= 0,95). En el análisis, se observó que a nivel coronal se produce un menor cambio de la cresta ósea vestibular respecto al nivel medio de 0,53 mm ($p= 0,096$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Además a nivel coronal se produce un menor cambio de la cresta ósea respecto a la parte apical de la cresta de 0,41 mm ($p= 0,335$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa. Por último, a nivel medio se produjo un mayor cambio de la cresta ósea respecto a la parte apical de 0,12 mm ($p= 1,000$). Esta diferencia no es estadísticamente significativa.

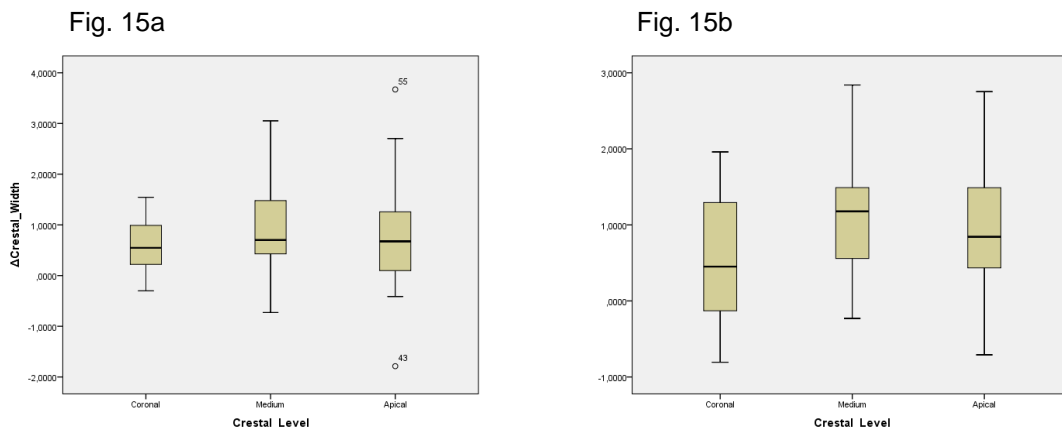


Figura 15. 15a) Box Plots representando los cambios ocurrido en el grosor de la tabla vestibular tras la ROG a las 8 semanas en los tres diferentes niveles, coronal, medio y apical. 15b) Box Plots representando los cambios ocurrido en el grosor de la tabla vestibular tras la ROG a las 16 semanas en los tres diferentes niveles, coronal, medio y apical.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio experimental en perro Beagle que compara el material test formado por HA (70%) + β -TCP (30%) (Osteon, Dentium, Seul, Corea) con respecto al BioOss (100% HA) utilizado como control positivo, demuestra que a las 8 semanas no hay diferencias significativas en la ganancia del grosor vestibular entre los tres grupos del estudio. Por el otro lado, a las 16

semanas, a pesar que no hay diferencias significativas entre el material test y el control positivo, sí que las hay si comparamos los resultados obtenidos entre el grupo test y el control positivo con respecto al control negativo.

Además, en ambos tiempos de cicatrización (8 semanas y 16 semanas), el mayor cambio se produce a nivel medio de la cresta, seguido por el nivel apical y por último a nivel coronal.

La combinación de membranas de colágeno y biomateriales, ha sido descrita como el enfoque más utilizado para la regeneración de la cresta atrófica, particularmente para los defectos horizontales (Sanz Sanchez 2015).

A pesar de que la literatura científica disponible en este campo se haya en forma de series de casos, los resultados de los procedimientos de aumento horizontal de cresta mediante el uso de membranas de colágeno y xenoinjertos particulados permiten la colocación de implantes en crestas previamente consideradas atróficas (Hammerle 2008, Urban 2013).

El comportamiento de los xenoinjertos ha sido testados y ampliamente contrastados en la literatura científica, sin embargo existen biomateriales alternativos de origen sintético que han demostrado resultados positivos en la literatura (Sanz 2015)

El objetivo de la presente investigación consistió en el estudio del comportamiento del material test formado por HA (70%) + β -TCP (30%) (Osteon, Dentium, Seul, Corea) con respecto al BioOss (100% HA) utilizado como control positivo.

Investigaciones clínicas han estudiado el comportamiento de estos dos biomateriales en pacientes que presentaron dehiscencias en implantes. Van Assche y cols (Van Assche 2013) en sus RCT a boca partida, evaluaron el comportamiento de estos materiales después de 1 año tras realizar técnicas regenerativa y después de rehabilitar los pacientes con sobredentadura sobre implantes. Los autores concluyeron que ambos materiales se comportaron de manera satisfactoria sin diferencias significativas (Van Assche 2013).

A pesar de la importancia de los resultados clínicos, esta investigación carece de evidencia histológica que permita analizar el comportamiento a nivel celular del biomaterial y su intergración.

En los estudios experimentales en perros de Schwarz y cols (Schwarz 2007), y en el estudio de Lee y cols (Lee 2016), se realizó el análisis histológico después

de tratar defectos de dehiscencia peri-implantaria con biomateriales formados por HA + β -TCP. En el estudio experimental en perros Beagle de Schwarz y cols (Schwarz 2007), los autores concluyeron tras el análisis histológico, que el comportamiento de estos dos materiales no producía diferencias significativas después de 1 semana y de 4 semanas, pero sí que había diferencias después de 9 semanas, ya que mientras el β -TCP se había reabsorbido casi por completo, en el xenoinjerto quedaba un mayor número de partículas encapsuladas en las fibras del tejido conectivo (Schwarz 2007).

Los valores de anchura de cresta obtenidos en el presente estudio no se pueden comparar directamente con los resultados obtenidos en los estudios histológicos ya que la metodología es diferente (Schwarz 2007, Lee 2016).

Mientras que los estudios histológicos valoran el grosor de la cresta que incluye únicamente el hueso y el implante en preparaciones sometidas a procesos de fijación, tinción y corte, los análisis de modelos incluyen además el tejido blando y los datos se obtienen de manera menos invasiva.

El análisis de los resultados en terapia regenerativa en implantes mediante herramientas digitales permite aportar datos relevantes sobre el comportamiento de los diferentes biomateriales (Benic 2015).

Los cambios en la anchura de cresta evaluados mediante escaneado óptico han resultado ser un procedimiento eficaz para valorar los resultados de la terapia regenerativa en humanos (Jemt & Lekholm 2003; Jemt & Lekholm 2005; Henriksson 2004; Schneider 2011).

En un estudio prospectivo de 16 pacientes con ausencia de un incisivo central o lateral superior se evaluó el tratamiento de dehiscencias periimplantarias con técnicas de ROG con BioOss y una membrana no reabsorbible de ePTFE (Schneider 2011). Los autores valoraron el cambio del volumen peri-implantario después de la ROG, una vez colocado el implante, después de la rehabilitación protésica y después de 1 año. Los autores concluyeron que, a pesar de que se obtuvo un aumento del volumen de la cresta ósea en todos los pacientes y que los procedimientos usados resultaron efectivos para la ganancia del volumen, existía mucha variabilidad en el cambio del volumen entre todos los individuos, en función de la cantidad y calidad de los tejidos previos a la cirugía regenerativa (Schneider 2011).

La metodología de los artículos anteriormente mencionados evalúan los cambios en el grosor de la cresta a diferentes alturas (Jemt & Lekholm 2003; Jemt & Lekholm 2005; Henriksson 2004; Schneider 2011). Aunque la metodología es igual a la del presente estudio, las comparaciones con los valores de grosor de cresta no son posibles ya que el presente estudio utiliza un modelo de perros Beagle.

En el presente estudio, los cambios en el grosor fueron similares a las 8 semanas mientras a las 16 semanas los valores de anchura de cresta favorecieron al grupo test.

Los cambios surgidos entre las 8 semanas y las 16 semanas podrían sugerir un diferente comportamiento de los sustitutos óseos utilizados.

Los estudios histológicos (Schwarz 2007; Lee 2016) que han valorado la tasa de reabsorción de materiales como la HA y el β -TCP parecen indicar que el β -TCP tiene una mayor tasa de reabsorción y sustitución por hueso nativo neoformado. No es posible pensar por lo tanto que el mayor grosor conseguido en el grupo test se haya producido por una menor tasa de reabsorción del biomaterial. Por lo tanto, una posible explicación, a parte el número reducido de la muestra, podría relacionarse con el tipo de membrana utilizada.

Las membranas utilizadas en los grupos test y en el control positivo difieren. Mientras que en el grupo test se usó una membrana de colágeno de múltiples capas y con un tiempo de reabsorción superior a 6 meses (1F, Gyeonggi R&DB center/226, 2F GSBC, 105 Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do, 443-270 Korea), las membranas del control positivo consistieron de una membrana de colágeno nativo con un periodo de reabsorción temprano de 6 a 8 semanas (Schwarz 2006; Schwarz 2008; iData Research Inc. 2011; iData Research Inc. 2012)

Es posible por lo tanto, que las diferencias encontradas entre test y control se hayan producido por el uso de membranas con distintas propiedades ya que la capacidad de mantenimiento del espacio y la capacidad de barrera de las membranas puede influir en la cantidad de tejido regenerado (Lekholm 1993; Polimeni 2005).

A pesar que todos los resultados obtenidos son positivos en cuanto a la anchura de cresta ósea ganada, con su consecuente aumento de volumen, los resultados del presente estudio, se han de analizar con cautela ya que las

condiciones obtenidas en los estudios experimentales en perros difieren enormemente de las condiciones encontradas en humanos.

CONCLUSIONES

A pesar de sus limitaciones, los resultados obtenidos analizando modelos escaneados, demuestran que:

- La ROG realizada con HA bovina y con una membrana de colágeno nativo, comparada con un biomaterial formado por una mezcla de HA + β -TCP y una membrana de colágeno multicapa con mayor periodo de reabsorción, son comparables en cuanto a aumento de la anchura de la cresta ósea vestibular , sin encontrar diferencias significativas a las 8 semanas.
- A las 16 semanas los resultados favorecieron al grupo test (HA + β -TCP) aunque los diferencias no fueron significativas.
- La tecnología digital 3D podría representar un gran avance en el futuro, por mejorar la calidad de almacenamiento de los datos y permitir una mejor interpretación y comparación de los resultados en las investigaciones preclínicas y clínicas.

BIBLIOGRAFIA

1. Schropp L, Kostopoulos L, Wenzel A, Isidor F. Clinical and radiographic performance of delayed-immediate single-tooth implant placement associated with peri-implant bone defects. A 2-year prospective, controlled, randomized follow-up report. *J Clin Periodontol.* 2005;32(5):480-7.
2. Fickl S, Zuhr O, Wachtel H, Stappert CF, Stein JM, Hürzeler MB. Dimensional changes of the alveolar ridge contour after different socket preservation techniques. *J Clin Periodontol.* 2008;35(10):906-13.
3. Fickl S, Zuhr O, Wachtel H, Bolz W, Hürzeler M. Tissue alterations after tooth extraction with and without surgical trauma: a volumetric study in the beagle dog. *J Clin Periodontol.* 2008;35(4):356-63.
4. Pietrokovski J, Massler M. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *J Prosthet Dent.* 1967;17(1):21-7.
5. Van der Weijden F, Dell'Acqua F, Slot DE. Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2009;36(12):1048-58.
6. Tan WL, Wong TL, Wong MC, Lang NP. A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23 Suppl 5:1-21.
7. Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 2005;32(2):212-8.
8. Araujo MG, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(6):545-9.
9. Seibert JS, Salama H. Alveolar ridge preservation and reconstruction. *Periodontol* 2000. 1996;11:69-84.
10. Benic GI, Hammerle CH. Horizontal bone augmentation by means of guided bone regeneration. *Periodontol* 2000. 2014;66(1):13-40.
11. Hammerle CH, Jung RE. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontol* 2000. 2003;33:36-53.
12. von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Higginbottom FL, Buser D. Lateral ridge augmentation and implant placement: an experimental study evaluating implant osseointegration in different augmentation materials in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16(3):343-54.
13. Stavropoulos F, Dahlin C, Ruskin JD, Johansson C. A comparative study of barrier membranes as graft protectors in the treatment of localized bone defects. An experimental study in a canine model. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(4):435-42.
14. Zitzmann NU, Naef R, Scharer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12(6):844-52.
15. Sanz-Sanchez I, Ortiz-Vigon A, Sanz-Martin I, Figuero E, Sanz M. Effectiveness of Lateral Bone Augmentation on the Alveolar Crest Dimension: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res.* 2015;94(9 Suppl):128S-42S.
16. Sanz M, Vignoletti F. Key aspects on the use of bone substitutes for bone regeneration of edentulous ridges. *Dent Mater.* 2015;31(6):640-7.
17. Tanuma Y, Matsui K, Kawai T, Matsui A, Suzuki O, Kamakura S, et al. Comparison of bone regeneration between octacalcium phosphate/collagen composite and beta-tricalcium phosphate in canine calvarial defect. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013;115(1):9-17.
18. Podaropoulos L, Veis AA, Papadimitriou S, Alexandridis C, Kalyvas D. Bone regeneration using beta-tricalcium phosphate in a calcium sulfate matrix. *J Oral Implantol.* 2009;35(1):28-36.
19. Trisi P, Rao W, Rebaudi A, Fiore P. Histologic effect of pure-phase beta-tricalcium phosphate on bone regeneration in human artificial jawbone defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003;23(1):69-77.
20. Tovar N, Jimbo R, Gangolli R, Perez L, Manne L, Yoo D, et al. Evaluation of bone response to various anorganic bovine bone xenografts: an experimental calvaria defect study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2014;43(2):251-60.
21. Esposito M, Grusovin MG, Felice P, Karatzopoulos G, Worthington HV, Coulthard P. The efficacy of horizontal and vertical bone augmentation procedures for dental implants - a Cochrane systematic review. *Eur J Oral Implantol.* 2009;2(3):167-84.
22. Benic GI, Jung RE, Siegenthaler DW, Hammerle CH. Clinical and radiographic comparison of implants in regenerated or native bone: 5-year results. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(5):507-13.

23. Jemt T, Lekholm U. Measurements of buccal tissue volumes at single-implant restorations after local bone grafting in maxillas: a 3-year clinical prospective study case series. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2003;5(2):63-70.
24. Thomason JM, Ellis JS, Jovanovski V, Corson M, Lynch E, Seymour RA. Analysis of changes in gingival contour from three-dimensional co-ordinate data in subjects with drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol.* 2005;32(10):1069-75.
25. Chen LC, Lundgren T, Hallstrom H, Cherel F. Comparison of different methods of assessing alveolar ridge dimensions prior to dental implant placement. *J Periodontol.* 2008;79(3):401-5.
26. Cardaropoli G, Lekholm U, Wennstrom JL. Tissue alterations at implant-supported single-tooth replacements: a 1-year prospective clinical study. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(2):165-71.
27. Amorfini L, Migliorati M, Signori A, Silvestrini-Biavati A, Benedicenti S. Block allograft technique versus standard guided bone regeneration: a randomized clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014;16(5):655-67.
28. Windisch SI, Jung RE, Sailer I, Studer SP, Ender A, Hammerle CH. A new optical method to evaluate three-dimensional volume changes of alveolar contours: a methodological in vitro study. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(5):545-51.
29. Fickl S, Schneider D, Zuhr O, Hinze M, Ender A, Jung RE, et al. Dimensional changes of the ridge contour after socket preservation and buccal overbuilding: an animal study. *J Clin Periodontol.* 2009;36(5):442-8.
30. Schneider D, Grunder U, Ender A, Hammerle CH, Jung RE. Volume gain and stability of peri-implant tissue following bone and soft tissue augmentation: 1-year results from a prospective cohort study. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(1):28-37.
31. Wiranto MG, Engelbrecht WP, Tutein Nolthenius HE, van der Meer WJ, Ren Y. Validity, reliability, and reproducibility of linear measurements on digital models obtained from intraoral and cone-beam computed tomography scans of alginate impressions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2013;143(1):140-7.
32. Strebel J, Ender A, Paque F, Krahenmann M, Attin T, Schmidlin PR. In vivo validation of a three-dimensional optical method to document volumetric soft tissue changes of the interdental papilla. *J Periodontol.* 2009;80(1):56-61.
33. Thoma DS, Jung RE, Schneider D, Cochran DL, Ender A, Jones AA, et al. Soft tissue volume augmentation by the use of collagen-based matrices: a volumetric analysis. *J Clin Periodontol.* 2010;37(7):659-66.
34. Gonzalez-Martin O, Veltri M, Moraguez O, Belser UC. Quantitative three-dimensional methodology to assess volumetric and profilometric outcome of subepithelial connective tissue grafting at pontic sites: a prospective pilot study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2014;34(5):673-9.
35. Sanz Martin I, Benic GI, Hammerle CH, Thoma DS. Prospective randomized controlled clinical study comparing two dental implant types: volumetric soft tissue changes at 1 year of loading. *Clin Oral Implants Res.* 2016;27(4):406-11.
36. Rebele SF, Zuhr O, Schneider D, Jung RE, Hurzeler MB. Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivative for root coverage: a RCT using 3D digital measuring methods. Part II. Volumetric studies on healing dynamics and gingival dimensions. *J Clin Periodontol.* 2014;41(6):593-603.
37. Mehl A, Gloger W, Kunzelmann KH, Hickel R. A new optical 3-D device for the detection of wear. *J Dent Res.* 1997;76(11):1799-807.
38. Schneider D, Ender A, Truninger T, Leutert C, Sahrman P, Roos M, et al. Comparison between clinical and digital soft tissue measurements. *J Esthet Restor Dent.* 2014;26(3):191-9.
39. Hammerle CH, Jung RE, Yaman D, Lang NP. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(1):19-25.
40. Urban IA, Nagursky H, Lozada JL, Nagy K. Horizontal ridge augmentation with a collagen membrane and a combination of particulated autogenous bone and anorganic bovine bone-derived mineral: a prospective case series in 25 patients. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2013;33(3):299-307.
41. Van Assche N, Michels S, Naert I, Quirynen M. Randomized controlled trial to compare two bone substitutes in the treatment of bony dehiscences. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013;15(4):558-68.
42. Schwarz F, Herten M, Ferrari D, Wieland M, Schmitz L, Engelhardt E, et al. Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxyapatite + beta tricalcium phosphate

- (Bone Ceramic) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen): an immunohistochemical study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007;36(12):1198-206.
43. Lee IK, Lim HC, Lee JS, Hong JY, Choi SH, Jung UW. Layered approach with autogenous bone and bone substitute for ridge augmentation on implant dehiscence defects in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2016;27(5):622-8.
 44. Benic GI, Elmasry M, Hammerle CH. Novel digital imaging techniques to assess the outcome in oral rehabilitation with dental implants: a narrative review. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26 Suppl 11:86-96.
 45. Jemt T, Lekholm U. Single implants and buccal bone grafts in the anterior maxilla: measurements of buccal crestal contours in a 6-year prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2005;7(3):127-35.
 46. Henriksson K, Jemt T. Measurements of soft tissue volume in association with single-implant restorations: a 1-year comparative study after abutment connection surgery. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2004;6(4):181-9.
 47. Schwarz F, Rothamel D, Herten M, Sager M, Becker J. Angiogenesis pattern of native and cross-linked collagen membranes: an immunohistochemical study in the rat. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(4):403-9.
 48. Schwarz F, Rothamel D, Herten M, Wustefeld M, Sager M, Ferrari D, et al. Immunohistochemical characterization of guided bone regeneration at a dehiscence-type defect using different barrier membranes: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(4):402-15
 49. iData Research Inc., US Dental Bone Graft Substitutes and other Biomaterials Market, 2011.
 50. iData Inc., European Dental Bone Graft Substitutes and other Biomaterials Market, 2012
 51. Lekholm U, Becker W, Dahlin C, Becker B, Donath K, Morrison E. The role of early versus late removal of GTAM membranes on bone formation at oral implants placed into immediate extraction sockets. An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 1993;4(3):121-9
 52. Polimeni G, Albandar JM, Wikesjö UM. Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of space provision. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(9):951-4.

